Gehirn von unbehandelten Larven bei einer Markierungsdauer von 4 h um 40% und bei einer solchen von 24 h sogar um 60% gehemmt ist. Wurde die RNS-Synthese durch 24 h T_4-Behandlung aktiviert, so bewirkt Actinomycin D eine signifikante Hemmung des Einbaus von Uridin-^{3}H, der jedoch noch dasselbe Ausmass erreicht wie bei Larven ohne Hormonbehandlung. Ferner ist zu beachten, dass bei T_4-induzierter, im Gegensatz zur spontanen RNS-Synthese, die durch Actinomycin D bedingte Hemmung des Einbaus von Uridin-^{3}H bei einer Markierungsdauer von 24 h geringer ist als bei einer solchen von 4 h. Dieser Befund spricht für eine antagonistische Wirkung von T_4 auf die durch Actinomycin D verursachte Hemmung der RNS-Synthese.

Die autoradiographischen Befunde zeigen, dass die RNS-Synthese im Gehirn von unbehandelten und T_4-behandelten Larven auf etwa die Hälfte herabgesetzt wird. Angesichts des Ausmasses der Hemmwirkung muss man annehmen, dass nicht nur die Transkription, d.h. die Bildung von Boten-RNS, sondern auch diejenige von ribosomaler RNS (Reich und Goldberg, 1964) oder noch anderer RNS-Fraktionen durch Actinomycin D betroffen werden. Aus diesem Grunde kann die *in vivo* beobachtete Metamorphosehemmung bei *Xenopus*-Larven durch Actinomycin D nicht durch den Ausfall einer einzigen RNS-Fraktion erklärt werden.

In diesem Zusammenhang sei erwähnt, dass erste Befunde nach elektrophoretischer Auftrennung der RNS-Fraktionen (Ryffel und Weber, unveröffentlicht) eine generelle Stimulation ihrer Synthese durch T_4 wahrscheinlich machen. Ferner sind in neuester Zeit in Kernen von eukaryoten Zellen neue Typen von RNS bekannt geworden, die im Kern umgesetzt werden und offenbar keine direkte Beziehung zur Proteinsynthese haben (Weinberg et al., 1969). Es ist denkbar, dass die im Autoradiogramm beobachtete diffuse Verteilung der Inkorporationsprodukte von Uridin-^{3}H teilweise sog. „Heterodisperse nucleäre RNS" (Weinberg et al., 1969) darstellt, deren Beziehung zur Hormonwirkung allerdings noch der Abklärung bedarf.

Zusammenfassung

Mit Hilfe der Autoradiographie kann am Gehirn von *Xenopus*-Larven bereits nach 4 h Behandlung mit 5.10^{-8}M L-Thyroxin eine signifikante Zunahme des Einbaus von Uridin-^{3}H in den Zellkernen nachgewiesen werden. Die Markierung ist gegen Ribonuclease empfindlich.

Die quantitative Auswertung der Autoradiogramme und die direkte Bestimmung von eingebautem Uridin-^{3}H in die Säure-fällbare RNS-Fraktion ergeben ähnliche Ergebnisse in bezug auf die Stimulation der RNS-Synthese durch Thyroxin.

Actinomycin D hemmt die durch Thyroxin bedingte Stimulation der RNS-synthese, wobei vermutlich verschiedene RNS-Fraktionen betroffen werden.

Summary

It is possible with the aid of autoradiography to demonstrate a significant stimulation of the incorporation of uridine-^{3}H into the nuclei of larval *Xenopus* brain tissue after 4 hours of treatment with 5.10^{-8}M L-thyroxine. The products of uridine-^{3}H incorporation are removed by RNase.

Grain counts in autoradiogramms and direct determinations of uridine-^{3}H content in the acid-insoluble RNA fraction of brain tissue have been found to give comparable results with regard to the stimulation of RNA-synthesis by thyroxine.

Actinomycin D considerably depresses thyroxine-induced stimulation of RNA-synthesis, presumably affecting different species of RNA.

Résumé

L'analyse autoradiographique a démontré que chez des larves de *Xenopus*, traitées pendant 4 heures par une solution de 5.10^{-8}M de L-thyroxine, il y a une augmentation significative de l'incorporation de l'uridine-^{3}H dans les noyaux du cerveau. L'absence de marquage après traitement des coupes à la ribonucléase indique que l'uridine-^{3}H est incorporé dans l'ARN.

L'évaluation quantitative des préparations autoradiographiques et l'estimation directe de l'uridine-^{3}H incorporé dans l'ARN insoluble dans l'acide, ont donné des résultats comparables sur l'action stimulatrice de la thyroxine sur la synthèse de l'ARN.

La stimulation de la synthèse de l'ARN, provoquée par la thyroxine, est fortement inhibée par l'actinomycine D.

LITERATUR

Blatt, L. M., K. H. Kim and P. P. Cohen. 1969. *The effect of thyroxine on ribonucleic acid synthesis by premetamorphic tadpole liver cell suspensions*. J. Biol. Chem. 244: 4801-4807.

Finamore, F. J. and E. Frieden. 1960. *Nucleic acids and induced amphibian metamorphosis*. J. Biol. Chem. 235: 1751-1755.

Nakagawa, H., K. H. Kim and P. P. Cohen. 1967. *Studies on ribonucleic acid synthesis in tadpole liver during metamorphosis induced by thyroxine*. J. Biol. Chem. 242: 635-641.

Nieuwkoop, P. D. and J. Faber. 1956. *Normal Table of Xenopus laevis*. North Holland Publ. Comp., Amsterdam.

Reich, E. and I. H. Goldberg. 1964. *Actinomycin and nucleic acid function*. Progr. Nucleic Acid Res. Mol. Biol. 3: 184-234.

Tata, J. R. 1966. *Requirement for RNA and protein synthesis for induced regression of the tadpole tail in organ culture*. Develop. Biol. 13: 77-94.

Tata, J. R. and C. C. Widnell. 1966. *Ribonucleic acid synthesis during early action of thyroid hormones.* Biochem. J. 98: 604-620.

— 1967. *The formation, distribution and function of ribosomes and microsomal membranes during induced amphibian metamorphosis.* Biochem. J. 105: 783-801.

Weber, R. 1966. *Über den Wirkungsmechanismus des Thyroxins in der Metamorphose der Amphibien.* Rev. suisse Zool. 73: 559-567.

Weinberg, R., C. Vesco and S. Penman. 1969. *New types of RNA in HeLa cells.* Ann. Embr. Morph. Suppl. 1: 63-80.

Zalta, J. P. et J. C. Beetschen. 1965. *Influence de l'actinomycine D sur la métamorphose induite par la thyroxine chez l'Axolotl.* C. R. Acad. Sci. Paris 260: 2921-2924.

Nº 37. — **Anne Droin, Verena Uehlinger** et **Jacqueline Reynaud.** — Une mutation létale récessive, « bt » (bent tail) chez *Xenopus laevis* Daudin. [1] (Avec 10 figures et 1 tableau)

Station de Zoologie expérimentale, Université de Genève.

Introduction

La mutation décrite ci-dessous a été la première des mutations découvertes par Fischberg (communication personnelle) dans le cadre de l'analyse génétique des noyaux somatiques. Elle a été trouvée dans la descendance d'un couple d'animaux issus chacun d'une transplantation nucléaire; elle est mentionnée, en 1964, sous le nom de M 1 par Fischberg et collaborateurs; plus récemment, elle a été retrouvée dans les descendances de deux autres animaux de transplantation croisés avec des partenaires sauvages.

Les croisements effectués entre ces différents animaux ou leuıs F_1 montrent bien qu'il s'agit de la même mutation dont l'expression peut, cependant, varier, surtout selon les parents utilisés.

Description du phénotype

Les embryons homozygotes bt/bt présentent un syndrome qui peut se manifester plus ou moins tôt suivant les croisements et à l'intérieur même de ceux-ci. Ainsi nous avons pu observer trois formes: un syndrome précoce, un syndrome type, le plus fréquemment observé, et un syndrome tardif.

---

[1] Travail exécuté grâce à une subvention du Fonds national suisse de la recherche scientifique (requêtes nº 4411 et 3.60.68).

Syndrome type.

Quatre jours après la fécondation, au moment où l'intestin se forme (stade 42 selon NIEUWKOOP et FABER, 1956), les embryons homozygotes se reconnaissent par l'apparition, au niveau des yeux et du cœur, de légers œdèmes, d'un retard dans le développement de l'intestin et par des traces de vitellus non digéré sur l'axe de la queue.

Celle-ci, 2 jours après l'apparition du syndrome, se plie vers le haut en formant un angle de 45 degrés environ (fig. 1). La flexion peut s'accentuer et l'extrêmité de la queue se replier encore une fois ce qui lui donne un aspect de crochet. A l'endroit de la flexion les cellules de la chorde sont déformées mais l'origine de la flexion n'a pas été déterminée.

Les œdèmes se développent beaucoup (fig. 3 et 7), il en apparaît d'autres au niveau du pronéphros et dans les nageoires et de très caractéristiques de chaque côté du cloaque.

Le développement du cœur et de l'appareil branchial d'un têtard « bent tail » âgé de 6 jours (fig. 3) est retardé par rapport à celui d'un têtard normal du même âge (fig. 2). L'épithélium du pharynx et le mésenchyme qui l'entoure présentent des signes de pycnose particulièrement bien visibles dans la région des arcs branchiaux (fig. 4).

Chez le mutant, le développement de l'intestin s'arrête au stade de la première torsion (42/43) tandis que le contrôle du même âge (6 jours) en est au stade 45/46 (fig. 5). Les parois de l'estomac et de l'intestin se creusent et des hémorragies apparaissent (fig. 6). Ces dernières peuvent aussi se produire sur le cerveau et le pronéphros.

A 7 jours et demi, la dégénérescence est plus avancée; au niveau du cœur et du pharynx (fig. 7), les arcs branchiaux sont devenus à peine reconnaissables, l'épithélium est totalement désordonné et des déchets cellulaires remplissent la cavité pharyngienne (fig. 8). Les parois du tube digestif sont presque complétement rongées tandis que les tubules pronéphrétiques apparaissent plutôt gonflées par l'œdème (fig. 9). Le tube nerveux, la chorde et les muscles ne présentent pas de dégénérescence marquée (sauf chez des têtards à syndrome précoce).

Les têtards « bent tail » finissent par mourir 3 à 4 jours après avoir montré les premières manifestations du syndrome, les têtards normaux étant, à ce moment-là, au stade de la prise de nourriture.

Syndrome précoce et syndrome tardif.

Le syndrome précoce apparaît chez des embryons âgés de 3 jours (st. 38/39); ils présentent alors de la microcéphalie et de la microphtalmie; l'intestin est moins différencié et les hémorragies moins fréquentes.

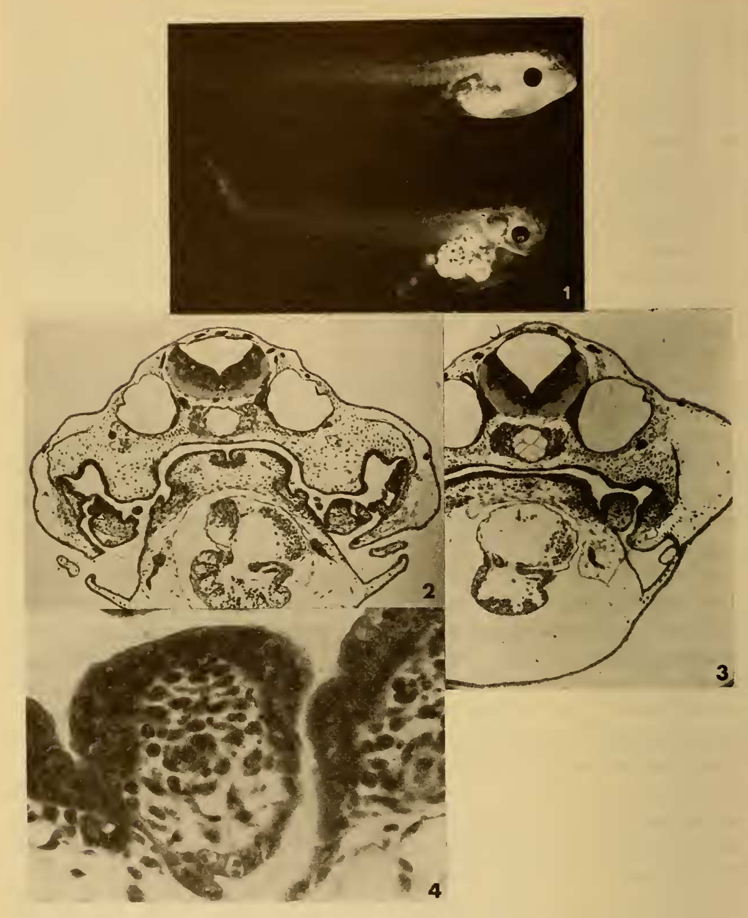


FIG. 1.
Têtard normal (en haut) et têtard « bent tail » (en bas) âgés de 6 jours.

FIG. 2.
Coupe transversale, au niveau du cœur, d'un têtard normal âgé de 6 jours.

FIG. 3.
Coupe transversale, au niveau du cœur, d'un têtard « bent tail » âgé de 6 jours.

FIG. 4.
Arc branchial droit de la figure 3 à un grossissement plus fort; quelques noyaux en pycnose.

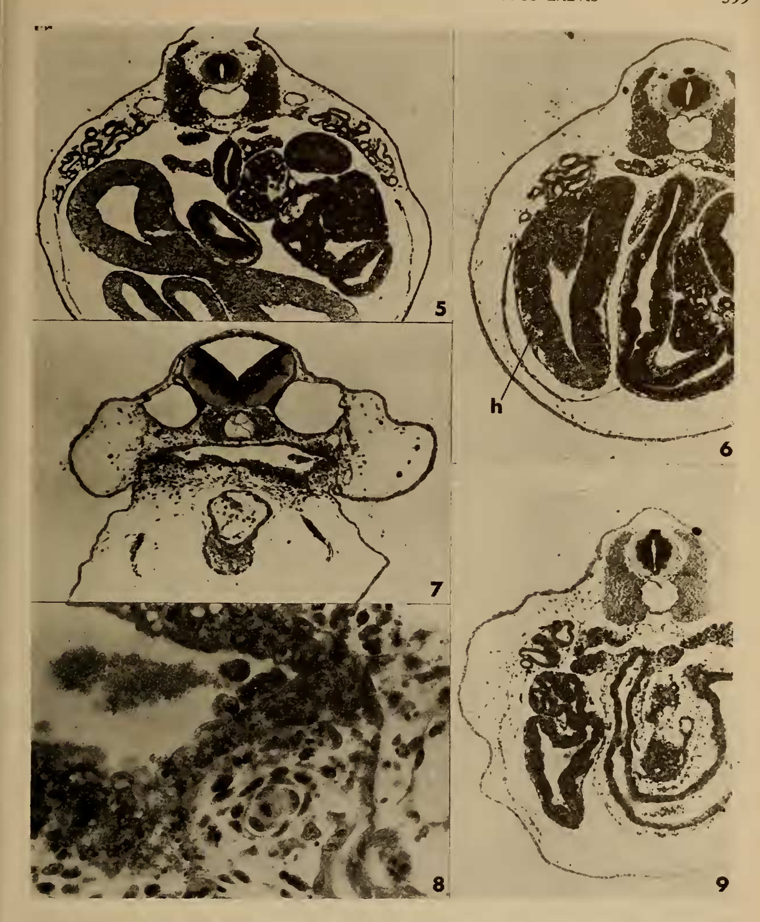


Fig. 5. Coupe transversale, au niveau du tube digestif, d'un têtard normal âgé de 6 jours.

Fig. 6. Coupe transversale, au niveau du tube digestif, d'un têtard « bent tail » âgé de 6 jours; h = hémorragie.

Fig. 7. Coupe transversale, au niveau du cœur, d'un têtard « bent tail » âgé de 7 jours et demi.

Fig. 8. Paroi droite du pharynx de la figure 7; pycnose généralisée.

Fig. 9. Coupe transversale, au niveau du tube digestif, d'un têtard « bent tail » âgé de 7 jours et demi.

Le syndrome tardif se manifeste chez des têtards âgés de 5 jours dont l'intestin est en partie déjà formé (st. 44/45). La cavité cœlomique présente également un œdème et l'intestin se trouve repoussé dans la partie antérieure de cette cavité.

Mode de transmission de la mutation

Parmi les F_1 issues des grenouilles de transplantation qui ont été analysées génétiquement dans notre laboratoire, trois d'entre elles étaient hétérozygotes pour cette mutation ($F_1$17.20; $F_1$75.63; $F_1$20.72).

Les résultats des croisements effectués au sein de ces F_1, *inter se*, ainsi que les « backcrosses » avec les parents sont résumés dans le tableau 1. Les pourcentages sont calculés d'après les totaux des embryons obtenus dans ces croisements. Ils montrent qu'il s'agit d'un facteur mendélien récessif dont la pénétrance est de 100%.

Tableau 1

Mode de transmission de la mutation « bent tail »

Génotypes croisés	Taux théorique de « bt »	Nombre de croisements		Taux de « bt »	
bt/+ × bt/+	25%	26	8: $F_1$17.20	274/1063	25,8%
			3: $F_1$75.63	30/ 146	20,5%
			6: $F_1$20.72	207/ 886	23,4%
			4: $F_1$17.20 × $F_1$75.63	46/ 217	21,2%
			2: $F_1$17.20 × $F_1$20.72	47/ 202	23,3%
			1: $F_1$20.72 × $F_2$17.20	4/ 17	23,5%
			2: $F_1$75.63 × $F_1$20.72	104/ 364	28,5%
				Total: 712/2895	24,6%
bt/+ × +/+	0%	15	2: $F_1$17.20	0/ 347	0 %
			13: $F_1$20.72	0/1929	0 %
				Total: 0/2276	0 %

Origine de la mutation

L'arbre généalogique des trois descendances présentant la mutation « bent tail » est illustré dans la figure 10. Cette mutation a tout d'abord été trouvée dans la $F_2$17.20 puis a été retrouvée dans les deux autres F_2 (75.63 et 20.72).

Nous avons désigné par D les parents des embryons donneurs des noyaux transplantés. Parmi les animaux D, la ♀ 00 seule a pu être testée pour « bent tail », les autres étant morts ou inconnus au moment de la découverte de la mutation. La ♀ 00, ancêtre commun de ces 3 différentes F_1 a été croisée avec son fils hétérozygote pour « bt », le ♂ 20, elle s'est montrée de type sauvage.

Dans la génération parentale P, constituée par les animaux issus des transplantations nucléaires et leurs partenaires, les ♀ 17 et 75 et les ♂ 20 et 72 ont été testés avec des porteurs hétérozygotes: la ♀ 75 et le ♂ 20 sont hétérozygotes, la ♀ 17 et le ♂ 72 sauvages. La ♀ 20 n'a pas été testée avant sa mort. Le ♂ 63 n'a pas été testé directement. Lors du croisement avec la ♀ 75, le nombre des embryons

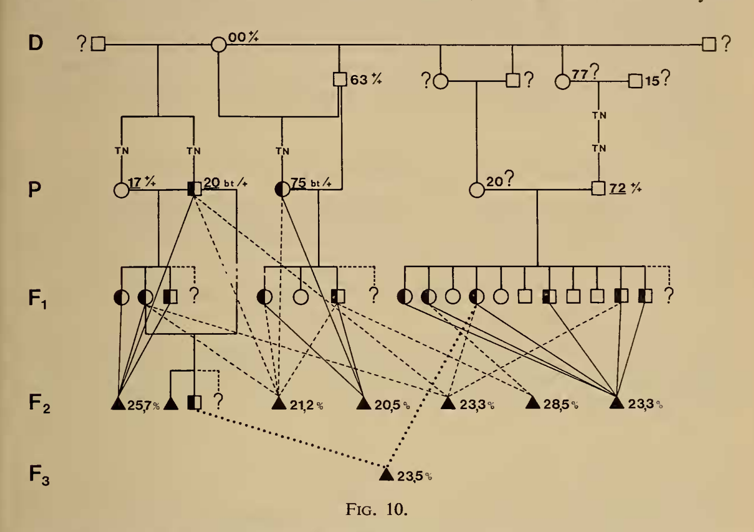


FIG. 10.

Arbre généalogique des 3 descendances présentant la mutation « bt ». TN: transplantation nucléaire; ?: animaux inconnus ou non testés pour la mutation; 75, 17, 20, 72: animaux de transplantation; ———: croisements au sein des F_1 (y compris P); - - - - - - : croisements entre F_1 (y compris P); · · ·: croisements entre F_1 et F_2; ◐ ou ◧: ♀ ou ♂ hétérozygotes; ▲: embryons homozygotes.

était trop petit et l'identification des anomalies rendue difficile à cause de la mauvaise qualité des œufs. Cependant, deux autres F_2 issues de ce ♂ 63, les $F_2$77.63 et 71.63 n'ont jamais montré de mutants dans 17, respectivement 14 croisements différents. On doit assumer que le ♂ 63 était de type sauvage ($p = 0{,}1\,\%$). En outre, dans une F_2 de la ♀ 75 avec un autre ♂, le ♂ 51, il n'a jamais été trouvé non plus d'embryons « bent tail » dans 19 croisements différents bien que la ♀ 75 était hétérozygote. (Ces 3 F_2 ne sont pas incluses dans la figure 10.)

Dans les F_1, seuls sont représentés les 17 animaux qui ont été testés pour la mutation, 11 d'entre eux sont hétérozygotes.

En F_2 et F_3, seuls les pourcentages des embryons homozygotes sont indiqués; ils correspondent à ceux du tableau 1.